

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Studijní obor: Speciální chemicko-biologické obory



**Jana Populová**

Příčiny vzniku epilepsie na podkladě poruch kortikálního vývoje mozku  
Causes of epilepsy due to disorders of cortical development of the brain

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: Mgr. Monika Řehořová, Ph.D.

Praha, 2021

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 6.5.2021

Podpis .....

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce Mgr. Monice Řehořové, Ph.D. za odborné rady a poznámky při vedení této práce.

## **Abstrakt**

Malformace kortikálního vývoje (MCD) jsou důležitou příčinou dětské epilepsie a odhaduje se, že až 40% těchto případů je farmakorezistentní. Přesné mechanismy, které se podílejí na vzniku epilepsie, nejsou stále zcela objasněny. Identifikace nových typů genů spojených s MCD vede k vývoji nových experimentálních modelů, které rekapitulují klinické příznaky u lidí. Cílem bakalářské práce je sumarizace informací o současných poznatcích v této oblasti získaných z MCD experimentálních modelů, které nám pomohou lépe porozumět epileptogenezi.

**Klíčová slova:** malformace kortikálního vývoje, epilepsie, fokální kortikální dysplázie, epileptogeneze

## **Abstract**

Malformation of cortical development are an important cause of childhood epilepsy. It is estimated that up to 40% of these cases are medication-resistant. Pathophysiological mechanisms involved in the development of epilepsy are unknown. Identification of new type of genes associated with MCD leads to development of new experimental models recapitulate human clinical symptoms. Aim of this study is to summarize information on current progress in this area obtained from MCD experimental models. These informations will help us better understand epileptogenesis.

**Keywords:** malformation of cortical development, epilepsy, focal cortical dysplasia, epileptogenesis

## Seznam použitých zkratek

<b>AKT</b>	Protein kináza B	<b>MAPs</b>	Microtubule-associated proteins
<b>AKT3</b>	Gen pro protein kinázu B	<b>MCD</b>	Malformace kortikálního vývoje
<b>AMPA</b>	Aminopropionová kyselina	<b>ME</b>	Megalencephalie
<b>AMPK</b>	AMP aktivovaná protein kináza	<b>MeCP2</b>	Gen kódující protein pro vývoj mozku
<b>ARX</b>	Aristaless-related homeobox	<b>MO25</b>	Protein tvořící komplex STRADa
<b>BC</b>	Balónové buňky	<b>mTOR</b>	Kináza, součást mTORC1 a mTORC2
<b>cAMP</b>	Cyklické AMP (adenosinmonofosfát)	<b>mTORC1</b>	Komplex tvořený mTOR a dalšími proteiny
<b>CASK</b>	Gen spojený se sekundární microcephalií	<b>mTORC2</b>	Komplex tvořený mTOR a dalšími proteiny
<b>CDN</b>	Cytomegalické dysmorfie neuronů	<b>NE</b>	Neuroepitelové buňky
<b>CREB</b>	cAMP response element-binding protein	<b>NeuN</b>	Jaderný neuronální antigen, marker neuronů
<b>CT</b>	Výpočetní tomografie	<b>NMDA</b>	N-methyl-D-asparagová kyselina
<b>DCX</b>	Gen pro doublecortin	<b>Nprl2</b>	Protein tvořící komplex GATOR1
<b>DEPDC5</b>	Protein tvořící komplex GATOR1	<b>Nprl3</b>	Protein tvořící komplex GATOR1
<b>EEG</b>	Elektroencefalografie	<b>PGA</b>	Pacemaker GABA synaptická aktivita
<b>FCD</b>	Fokální kortikální dysplázie	<b>PI3K</b>	Fosfatidylinositol-3-kináza
<b>FCDI</b>	Fokální kortikální dysplázie prvního typu	<b>RELN</b>	Gen pro protein REELIN
<b>FCDII</b>	Fokální kortikální dysplázie druhého typu	<b>RG</b>	Radiální gliové progenitory
<b>FCDIII</b>	Fokální kortikální dysplázie třetího typu	<b>RGM</b>	Repulsive guidance molecules
<b>FDG PET</b>	Pozitronová emisní tomografie	<b>RTK</b>	Receptor tyrosinová kináza
<b>FGF</b>	Fibroblastový růstový faktor	<b>S6</b>	Ribozomální protein, marker hyperaktivace mTOR
<b>FLN1</b>	Gen pro filamin 1	<b>SBH</b>	Subkortikální band heterotopie
<b>FOXP1</b>	Gen spojený se sekundární microcephalií	<b>STRADa</b>	Komplex regulující mTOR signální kaskádu
<b>GABA</b>	Kyselina g-aminomáselná, neurotransmiter	<b>SVZ</b>	Subventrikulární zóna
<b>GATOR1</b>	Komplex regulující mTOR signální kaskádu	<b>TBC1D7</b>	Protein tvořící TSC komplex
<b>HME</b>	Hemimegalencephalie	<b>TBC1D7</b>	Protein tvořící TSC komplex
<b>IGF-1</b>	Insulin-like growth factor 1	<b>TSC</b>	Komplex tuberózní sklerózy, komplex regulující mTOR signální kaskádu
<b>IP</b>	Intermediární progenitorové buňky	<b>TSC1</b>	Protein tvořící TSC komplex
<b>KCC2</b>	Kotransportér pro K <sup>+</sup> a Cl <sup>-</sup>	<b>TSC2</b>	Protein tvořící TSC komplex
<b>KCC2</b>	Kotransportér pro K <sup>+</sup> a Cl <sup>-</sup>	<b>TUBA1A</b>	Gen pro tubulin α-1A
<b>LIS1</b>	Gen pro protein regulující migraci	<b>VLDLR</b>	Receptor pro protein REELIN
<b>LKB1</b>	Protein tvořící komplex STRADa	<b>VZ</b>	Ventrikulární zóna
		<b>XLIS</b>	Gen pro doublecortin

## Obsah

1. Úvod .....	1
2. Vývoj kortexu u člověka.....	3
2.1 Stavba lidského kortexu.....	3
2.1.1 Vrstvy neocortexu .....	3
2.2 Proliferace neuronů a glií.....	4
2.2.1 Excitační pyramidové neurony .....	4
2.2.2 Inhibiční interneurony .....	5
2.2.3 Gliogeneze .....	5
2.3 Migrace neuronů .....	6
2.3.1 Excitační pyramidové neurony a radiální migrace.....	7
2.3.2 Inhibiční interneurony a tangenciální migrace .....	7
2.4 Postmigrační diferenciaci neuronů .....	7
2.4.1 Konektivita.....	7
2.4.2 Apoptóza neuronů .....	8
2.4.3 Růst axonu .....	8
2.4.4 Synaptogeneze .....	9
2.4.5 Myelinizace axonů .....	9
2.4.6 Gyrifikace .....	9
3. Epileptogeneze .....	10
4. Rozdělení malformací na základě narušeného vývojového procesu.....	11
5. Poruchy proliferace neuronů.....	12
5.1 Primární microcephalie.....	13
5.1.1 Příčiny primární microcephalie.....	13
5.2 mTORopatie.....	14
5.2.1 Fokální kortikální dysplázie II (FCDII) .....	14
5.2.2 Komplex tuberózní sklerózy (TSC) .....	15
5.2.3 Megalencephalie (ME) .....	15
5.2.4 Hemimegalencephalie (HME) .....	15
5.2.5 mTOR signální kaskáda.....	16
5.2.6 Mutace spojené s mTORopatiemi.....	17
5.2.7 Epileptogeneze u fokálních dysplázií a HME.....	18
6. Poruchy migrace neuronů .....	18

6.1	Lissencephalie .....	18
6.1.1	Příčiny lissencephalie .....	19
6.2	Cobblestone malformace .....	19
6.2.1	Příčiny cobblestone malformací.....	19
6.3	Heterotopie.....	20
6.3.1	Periventrikulární heterotopie .....	20
6.3.2	Subkortikální heterotopie .....	20
6.3.3	Subkortikální band heterotopie .....	20
6.3.4	Příčiny heterotopie .....	20
6.4	Epileptogeneze u poruch migrace neuronů.....	21
7.	Poruchy postmigrační diferenciacce neuronů.....	21
7.1	Sekundární microcephalie.....	21
7.1.1	Příčiny sekundární microcephalie .....	22
7.2	Fokální kortikální dysplázie I a III.....	22
7.2.1	Příčiny FCDI a III .....	22
7.2.2	Epileptogeneze u FCD I a III.....	22
7.3	Ageneze corpus callosum .....	22
7.3.1	Příčiny ageneze corpus callosum .....	23
7.3.2	Epileptogeneze u ageneze corpus callosum.....	23
8.	Malformace postihující více vývojových procesů .....	23
8.1	Polymicrogyrie.....	23
8.1.1	Příčiny polymicrogyrie.....	24
8.1.2	Epileptogeneze u polymicrogyrie .....	24
8.2	Dysgyrie.....	24
9.	Závěr.....	25
10.	Použitá literatura.....	26

# 1. Úvod

Malformace kortikálního vývoje (MCD) jsou skupinou vzácných poruch, které vznikají v důsledku narušení kortikálního vývoje. Procesy, které jsou zasaženy, zahrnují proliferaci progenitorů neuronů a gliových buněk, jejich následnou migraci do kortikálního plátu a nakonec jejich diferenciaci a maturaci v kortikálních vrstvách zahrnující růst axonů a vytváření nových synapsí (Barkovich et al., 2012), (Represa, 2019). Tyto poruchy způsobují přibližně 40 % těžké epilepsie rezistentní vůči lékům u dětí a často se musí přistoupit k chirurgickému odnětí poškozené tkáně. Téměř u tří čtvrtin pacientů s MCD se během života vyvine epilepsie. Mimo jiné se také u pacientů může objevit snížený intelekt, kognitivní poruchy a jiné komorbidity (Barkovich et al., 2012), (R. J. Leventer et al., 1999).

Epilepsie je onemocnění způsobené nekoordinovanou masivní excitací určité neuronální populace, která způsobuje epileptické záchvaty. Ty mohou být buď lokální a ovlivní pouze určitou část těla v závislosti na epileptickém ložisku. Při nich většinou nedochází ke ztrátě vědomí. Generalizované záchvaty mívají těžší průběh, postihují více částí těla a jsou spojeny se ztrátou vědomí. Může docházet i k tomu, že je během záchvatu hyperaktivována i okolní zdravá část mozku (Lang & Silbernagl, 2001).

První příznaky epilepsie se mohou objevit jak u novorozenců, tak i v dospělosti, ale často se objevují v prvním roku života, kdy mozek prochází velkým množstvím změn, z nichž pro vznik epilepsie jsou nejdůležitější intenzivní maturace neuronů a vytváření nových synapsí. (Represa, 2019).

Pro správnou funkci mozku je důležité udržování excitačně-inhibiční rovnováhy. Ta je zajištěna správným propojením neuronů pomocí synapsí. Tento jev pak souhrnně nazýváme jako konektivita neuronů nebo konektivita mozku. Zásadní roli zde hrají inhibiční GABAergní synapse (GABAergní interneurony) a excitační glutamátergní synapse (glutamátergní pyramidové buňky). Když je konektivita narušena, může docházet k hyperexcitabilitě neuronů a vzniku epileptických záchvatů. Nezanedbatelný podíl mají i gliové buňky, které sice nejsou přímo zodpovědné za vznik záchvatů, ale mohou při poškození jejich funkce nebo propojení podporovat patologické projevy onemocnění (Ben-Ari, 2002), (Subramanian et al., 2020).

Jednotlivé malformace jsou děleny na základě několika kritérií (typ narušeného procesu, genetické pozadí, mutovaná signální dráha). Dělení ovšem nemusí být vždy jednoznačné, jelikož může například docházet k různým mutacím v rámci jediného genu, a výsledné projevy nejsou vždy stejné. Často také určitá malformace nevzniká narušením pouze



jednoho vývojového procesu, ale může mít více různých příčin (Barkovich et al., 2012), (R. J. Leventer et al., 1999), (Represa, 2019), (Subramanian et al., 2020).

V laboratořích se pro studium malformací používají zvířecí modely, především laboratorní myš nebo krysa. I přesto, že tito hlodavci jsou savci a mají podobný vývoj, je třeba brát ohled i na odlišnosti. Například myš má oproti člověku menší mozek bez výrazné gyrifikace a nemusí se tak hodit pro každý experiment. (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). Dále se používají i primáti z důvodu velké podobnosti s lidským mozkem, například makak (Van Essen, 1997). Diagnostika malformací kortikálního vývoje probíhá za pomoci různých zobrazovacích metod. Některé malformace se dají odhalit i prenatálně pomocí magnetické rezonance nebo fetálního ultrazvuku, postnatálně se navíc k již uvedeným metodám dá použít CT, EEG nebo FDG PET (Severino et al., 2020).

## 2. Vývoj kortexu u člověka

### 2.1 Stavba lidského kortexu

Kortex, neboli mozková kůra, je tvořena šedou hmotou mozkovou pokrývajícím koncový mozek (telencephalon). Plocha mozkové kůry je výrazně zvětšena pomocí gyrifikace. Fylogeneticky staré oblasti kortexu se označují jako allocortex, jsou tvořené archicortexem a paleocortexem a mají tří- až čtyřvrstevnou strukturu. Fylogeneticky nová oblast tvoří naprostou většinu mozkové kůry a označuje se jako neocortex nebo isocortex. V neocortexu se nacházejí neurony uspořádané v šesti vrstvách. Dále je kortex rozdělen do vertikálních sloupců, které tvoří funkční jednotky (Čihák, 2004), (Lüllmann-Rauch, 2012).

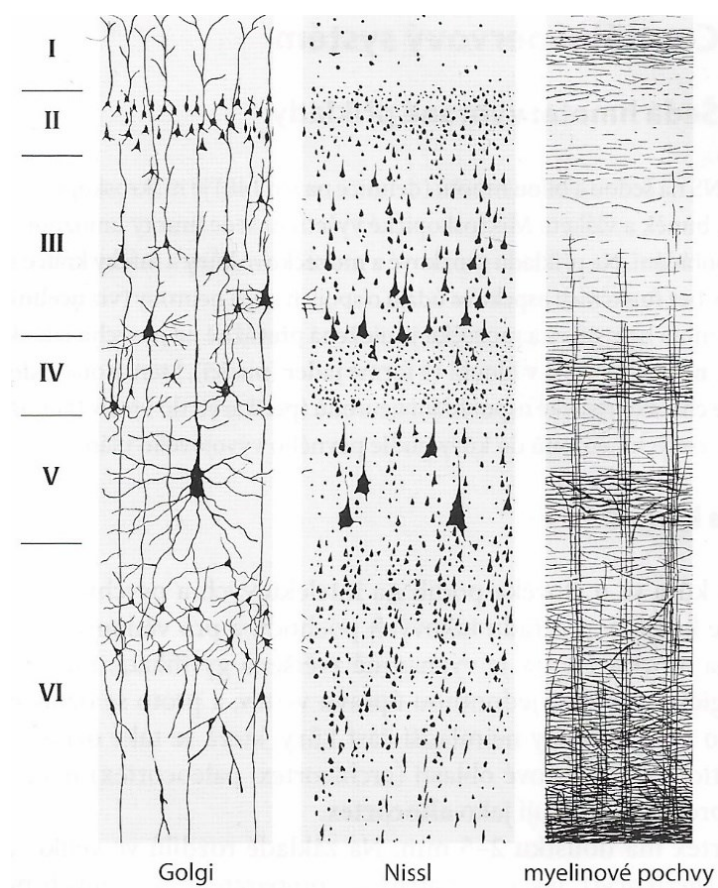
Nejpočetnější jsou v kortexu pyramidové excitační glutamatergní neurony (cca 80 %), které vytváří synaptické spoje na dlouhou vzdálenost, kdežto GABAergní inhibiční interneurony tvoří lokální spojení v rámci kortexu mezi jednotlivými pyramidovými buňkami. Tloušťka kortexu se pohybuje mezi 1 až 3 mm, tenčí je uvnitř záhybu, tlustší naopak na vrcholu gyrálního závitů (Raybaud & Widjaja, 2011).

Ačkoliv se neocortex vyskytuje u všech savců, u člověka došlo k výraznému zvětšení a zvýšení komplexity a je tak zodpovědný za vyvinutější kognitivní funkce v porovnání s ostatními savci (Rakic, 2009).

#### 2.1.1 Vrstvy neocortexu

Pořadí je uvedeno vzestupně směrem od piálního povrchu (směrem dovnitř). Vrstvy jsou ve většině kortexu dobře rozlišitelné (homotypický neocortex), v některých oblastech dochází k modifikacím (heterotypický neocortex) (Lüllmann-Rauch, 2012).

- I. **Molekulární vrstva** – málo buněk, Cajal-Retzius buňky, hodně vláken
- II. **Vnější granulózní vrstva** – hustě uspořádané malé pyramidové a nepyramidové buňky
- III. **Vnější pyramidová vrstva** – řídce uspořádané menší pyramidové a nepyramidové buňky
- IV. **Vnitřní granulózní vrstva** – hustě uspořádané malé modifikované pyramidové buňky
- V. **Vnitřní pyramidová vrstva** – řídce uspořádané různě velké pyramidové a pár nepyramidových buněk
- VI. **Multiformní vrstva** – různě modifikované pyramidové a nepyramidové buňky



**Obrázek č. 1: Vrstvy neocortexu.** Golgi – znázornění celých neuronů, barveno Golgiho impregnační metodou. Nissl – znázornění perikaryí, Nisslovo barvení. Myelinové pochvy – uspořádání myelinových vláken, barvení na myelinové pochvy. Převzato a upraveno podle Lüllmann-Rauch, 2012.

## 2.2 Proliferace neuronů a glií

Proliferace označuje děj, kdy dochází ke vzniku nových buněk, v tomto případě nových neuronů a glií.

### 2.2.1 Excitační pyramidové neurony

Proliferace excitačních neuronů v lidském embryu začíná v 5-6 gestačním týdnu a končí mezi 22-25 gestačním týdnem a dává vznik pyramidovým neuronům a gliím (Severino et al., 2020).

Základním typem buněk jsou neuroepitelové buňky (NE) umístěné ve ventrikulární zóně (VZ), které podstupují symetrické dělení (vzniknou dvě stejné dceřiné buňky) jehož výsledkem je exponenciální zmnožení těchto progenitorových buněk (Subramanian et al., 2020). NE jsou uspořádané formou pseudostratifikovaného epitelu (jedna vrstva buněk, ale jádra v různých pozicích) a jsou spojené s apikálním i bazálním povrchem (Severino et al.,

2020). Symetrické dělení (vzniknou dvě stejné dceřiné buňky) vede k exponenciálnímu nárůstu počtu buněk, zatímco asymetrické (vzniknou dvě různé dceřiné buňky) vede k lineárnímu nárůstu (Rakic, 2009).

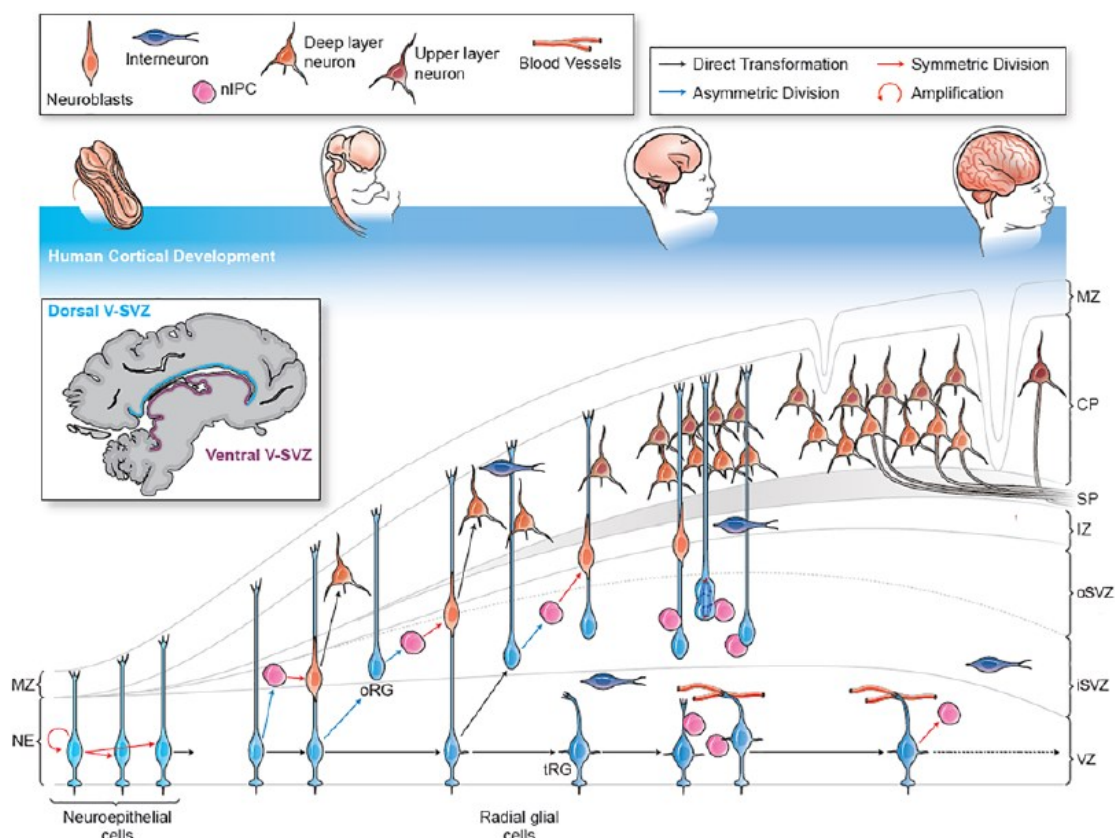
Následně se NE přemění na radiální gliové progenitory (RG), které stále zachovávají apikální a bazální kontakty, ale jejich bazální výběžek se výrazně prodlouží a tvoří tak jakési lešení, podle kterého mohou migrovat buňky. RG se dělí buď symetricky nebo asymetricky. Po symetrickém dělení vznikají nové RG, zatímco po asymetrickém vznikne nová RG a neuron nebo častěji bazální progenitorová buňka, která ztrácí apikální kontakt s povrchem komory – ty se označují jako intermediální progenitorové buňky (IP). IP se přesouvají bazálně a tvoří subventrikulární zónu (SVZ) a dělí se za tvorby neuronů (Severino et al., 2020), (Subramanian et al., 2020), (Romero et al., 2018).

### **2.2.2 Inhibiční interneurony**

Inhibiční interneurony vznikají odděleně od excitačních v několika oddílech subkortikální oblasti telencephalonu. Především to je mediální a kaudální ganglionická eminence a preoptická oblast (Chu & Anderson, 2015).

### **2.2.3 Gliogeneze**

Gliové buňky vznikají z RG stejně jako neurony. Vznikají tak především astrocyty a oligodendrocyty. Mikroglie nemají neuroektodermální původ, pocházejí z mezenchymu (Romero et al., 2018).



**Obrázek č. 2: Schéma kortikálního vývoje.** NE – neuroepitel. VZ – ventrikulární zóna. iSVZ – vnitřní subventrikulární zóna. oSVZ – vnější subventrikulární zóna. IZ – intermediární zóna. CP – kortikální plát. MZ – marginální zóna. Převzato a upraveno podle Subramanian et al., 2020.

## 2.3 Migrace neuronů

Neurony opouští místo svého vzniku a migrují na cílová místa a vytváří tak šestivrstvou strukturu kortexu (Subramanian et al., 2020). Migrace začíná, když se vytvoří první neurony a končí mezi 30-35 gestačním týdnem (Severino et al., 2020).

Migrace se dá rozdělit podle směru na radiální a tangentiální a podle typu na lokomoci, somální translokaci a multipolární migraci. Při lokomoci se neurony pohybují podél výběžků RG směrem k piálnímu povrchu (Kanatani et al., 2004). Při somální translokaci se neuron přibližuje k piálnímu povrchu pomocí zkracování svého výběžku, zatímco výběžek spojující ho s ventrikulárním povrchem se zkracuje až se nakonec přeruší. Somální translokace je regulována genem LIS1 (Raybaud & Widjaja, 2011). Při multipolární migraci se pohybuje pomocí zkracování a natahování svých výběžků (Kanatani et al., 2004).

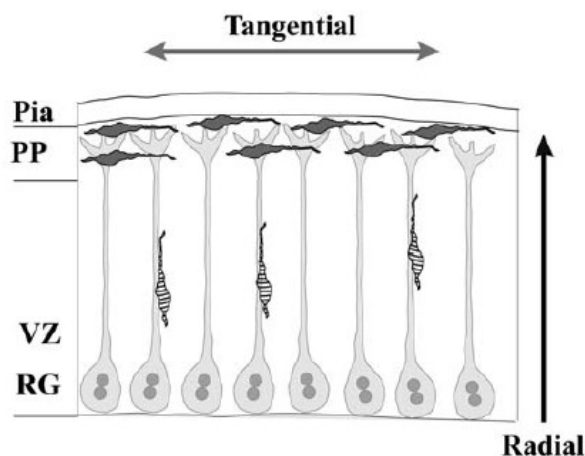
Migrace je regulována pomocí mezibuněčných spojení mezi migrujícím neuronem a RG, dále extracelulárním proteinem Reelin (Subramanian et al., 2020). Také se účastní různé proteiny zajišťující buněčnou adhezi (Severino et al., 2020) a pro tangentiální migraci navíc různé semaforiny, neuropiliny a neuroreguliny (Raybaud & Widjaja, 2011).

### 2.3.1 Excitační pyramidové neurony a radiální migrace

Excitační neurony migrují radiálně podél výběžků RG do kortikálního plátu (Subramanian et al., 2020). Při vstupu do intermediární zóny se přemění na multipolární a využívají multipolární migraci, ovšem před vstupem do kortikálního plátu obnoví bipolární migraci a začnou využívat lokomoce podél výběžků RG (Kanatani et al., 2004). Dříve vyvinuté neurony se usadí v hlubších vrstvách kortexu, zatímco novější migrují skrze ně k povrchovým vrstvám kortexu (Severino et al., 2020).

### 2.3.2 Inhibiční interneurony a tangentiální migrace

Inhibiční interneurony se pohybují tangentiální migrací do kortikálního plátu pomocí saltatorních přeskoků. Po vstupu do kortikálního plátu začnou migrovat radiálně (Subramanian et al., 2020).



Obrázek č. 3: Radiální a tangentiální migrace. Převzato a upraveno podle Barber & Pierani, 2016.

## 2.4 Postmigrační diferenciaci neuronů

Postmigrační diferenciaci zahrnuje maturaci neuronů, zvětšení buněčného těla, apoptózu neuronů, růst axonů, synaptogenezi a dendritogenezi vyúsťující ve správně propojenou funkční síť neuronů (Severino et al., 2020).

Tyto procesy se odehrávají po ukončení proliferace a migrace a například synaptogeneze pokračuje i postnatálně až do dvou let věku (Subramanian et al., 2020).

Nárůst mozku po narození není způsoben nárůstem počtu neuronů, ale větším počtem synaptických propojení, gliových buněk a myelinizací neuronů (Budday et al., 2015), (Raybaud & Widjaja, 2011).

### 2.4.1 Konektivita

Zásadní pro vytvoření funkčních propojení neuronů je spontánní elektrická aktivita nezralých neuronů, která se účastní regulace apoptózy neuronů, aktivace nezralých synapsí a myelinizace axonů (Kirischuk et al., 2017). Spontánní elektrická aktivita neuronů před

vytvořením zralých synapsí je způsobena fluktuacemi v intracelulární koncentraci vápenatých iontů ( $\text{Ca}^{2+}$ ). To je pravděpodobně způsobeno přítomností neurotransmiterů, které aktivují napětově nebo ligandem řízené iontové kanály (Spitzer, 2006).

Důležitou roli má spontánní elektrická aktivita i v případě GABA neurotransmiteru. Ten ve vyvinutém mozku působí jako inhibiční neurotransmitter a způsobuje hyperpolarizaci neuronu přes vtok chloridových iontů ( $\text{Cl}^-$ ) do buňky. Ve vyvíjejícím se mozku má ale excitační funkci díky vysoké intracelulární koncentraci  $\text{Cl}^-$ . V takovém případě budou  $\text{Cl}^-$  z neuronu vytékat a dochází k depolarizaci. Poté, co se vytvoří dostatečné množství GABAergních a glutamatergních synapsí, dojde k zprovoznění transportního systému pro pumpování  $\text{Cl}^-$  z buněk (KCC2 kotransportér pro  $\text{K}^+$  a  $\text{Cl}^-$ ) a z GABA se stává inhibiční neurotransmitter. Depolarizace způsobená uvolňováním GABA neurotransmiteru během vývoje umožňuje již zmíněné fluktuace intracelulární koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  účastníci se tvorby synapsí a zároveň zahajuje expresi KCC2 (Ben-Ari, 2002).

Utváření konektivity probíhá stejně jako tvorba kortexu od vnitřních k vnějším vrstvám a vytváření nových spojů iniciuje skládání kortexu do gyrů a sulců (Subramanian et al., 2020).

Poruchy konektivity způsobují různé neurologické a neuropsychiatrické poruchy (Subramanian et al., 2020).

#### **2.4.2 Apoptóza neuronů**

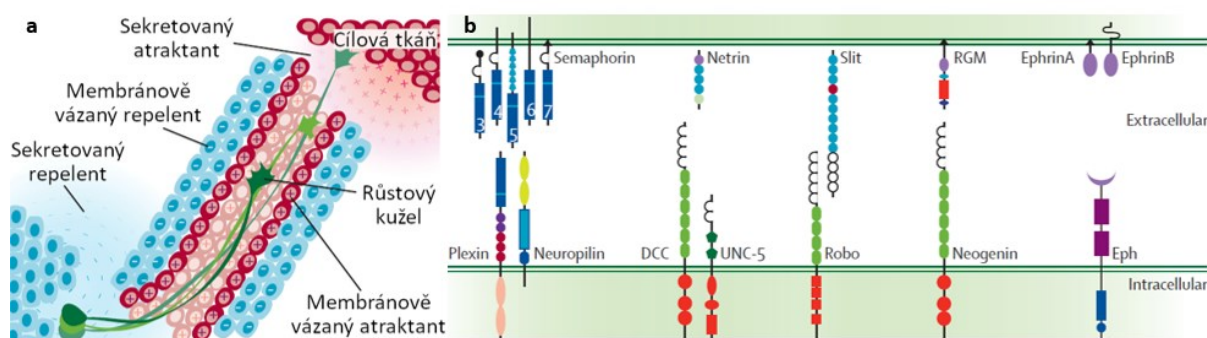
Apoptóza (programovaná buněčná smrt) je fyziologický proces účastníci se konečné determinace množství neuronů a velikosti mozku. Dochází k ní v závislosti na elektrické aktivitě neuronů. Pokud dochází k vysílání vysokofrekvenčních signálů, je utlumena kaspáza zprostředkovávající apoptózu (Kirischuk et al., 2017).

Přežití neuronů závisí na přísunu trofických faktorů, jejichž uvolnění je způsobeno nárůstem intracelulární koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v důsledku elektrické aktivity neuronů, které se zároveň účastní signalizačních kaskád důležitých pro přežití. Pravděpodobně nejdůležitější pro přežití nezralých neuronů je PI3K/AKT signální kaskáda spuštěná zvýšením intracelulární koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$ , která vede k fosforylaci CREB a následně transkripci anti-apoptotických faktorů (Wagner-Golbs & Luhmann, 2012).

#### **2.4.3 Růst axonu**

Růst axonu je způsoben axon navádějícími proteiny. Ty jsou produkovány v blízkosti rostoucích axonů, fungují jako atraktanty nebo repelenty a axon je k nim buď přitahován nebo je od nich odpuzován. Pro tyto proteiny je na růstovém kuželu axonu odpovídající receptor.

Axon navádějící proteiny se dělí do pěti skupin: semaforiny, netriny, slit proteiny, RGM (repulsive guidance molecules) a ephriny. Při vývoji se nejvíce účastní semaforiny, netriny a slit proteiny (Van Battum et al., 2015).



**Obrázek č. 4: Navádění a růst axonu.** (a) Působení atraktantů a repelentů. (b) Axon navádějící protein (nahore) a jejich příslušné receptory (dole). Převzato a upraveno podle Van Battum et al., 2015.

#### 2.4.4 Synaptogeneze

Synaptogeneze začíná už během vývoje, ale probíhá hlavně po narození spolu s růstem axonů a dendritů a myelinizací. Neurony mohou tvořit synapse až po kontaktu s astrocyty. Tento proces má tři fáze: nezralé synapse se tvoří mezi axony a dendrity; maturace synapsí; redukce nadbytečných synapsí (Budday et al., 2015). Aktivace synapsí probíhá zabudováním AMPA receptorů (ionotropní glutamátový receptor) do postsynaptické membrány (Subramanian et al., 2020). K zabudování AMPA receptorů dochází na základě spontánní elektrické aktivity neuronů (Kirischuk et al., 2017).

Utváření a redukce synapsí probíhají u člověka nejvíce do období adolescence, ale objevují se v určité míře během celého života a tvorba nových synapsí se dá indukovat například učením. Lidský mozek je tak z tohoto pohledu velmi plastický (Budday et al., 2015), (Subramanian et al., 2020).

#### 2.4.5 Myelinizace axonů

Elektrická aktivita neuronů způsobí aktivaci adenosinových receptorů na prekursorových buňkách pro oligodendrocyty, které se tak začnou množit a mohou poté myelinizovat axony (Stevens et al., 2002 citovaný dle Kirischuk et al., 2017). Dále axony skrze uvolňování glutamátu také napomáhají aktivaci myelinizace (Wake et al., 2015 citovaný dle Kirischuk et al., 2017).

#### 2.4.6 Gyrifikace

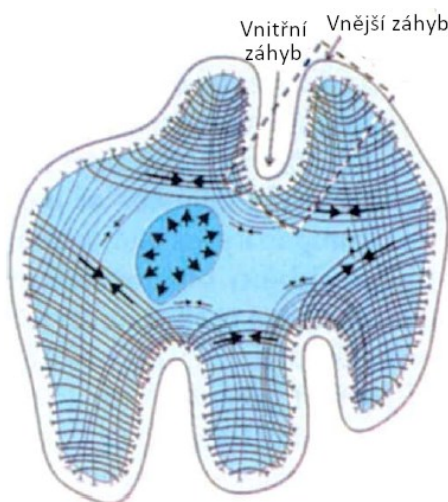
Gyrifikace je proces úzce spojený s migrací neuronů. V prenatálním období nejvíce probíhá během třetího trimestru, ale pokračuje až do dospělosti spolu se výrazným zvětšením



mozku. Oproti jiným vývojovým procesům je spíše méně prozkoumaná a existuje hned několik teorií popisujících mechanismus gyrifikace (White et al., 2010).

Je možné, že důležitou úlohu při gyrifikaci mají progenitorové buňky ve vnější subventrikulární zóně (oSVZ, u gyrencefalických druhů je SVZ rozdělena na vnitřní a vnější) a jejich zmnožení a tím zvětšení množství buněk migrujících do neocortexu (Subramanian et al., 2020). Podle (Rash et al., 2019) je ale produkce neuronů v oSVZ dokončená již před gyrifikací a hnací silou jsou gliové buňky vznikající ze stejných prekursorů, ale až po vzniku neuronů (Rash et al., 2019).

V teorii nazývané tension-based morfogenesis je gyrifikace založená na napětí/tahu axonů procházejících skrze bílou hmotu pod neocortexem. Když migrující neurony doputují na určené místo, začnou vytvářet axony, kterými se propojí s cílovými strukturami. Silně propojené oblasti se poté začnou přitahovat skrze axony (nové gyry), zatímco méně propojené se od sebe vzdalují (nové sulcy) a dochází tak ke skládání kortexu (Van Essen, 1997).



**Obrázek č. 5: Skládání kortexu na základě tahu axonů.** Šipky znázorňují směr tahu axonů mezi silně propojenými oblastmi tvořící vnější záhyb (gyrus). Vnitřní záhyb odděluje slabě propojené oblasti. Převzato a upraveno podle Van Essen, 1997.

### 3. Epileptogeneze

Důležitou otázkou u MCD je, jak mohou malformace vyvolávat epileptické záchvaty.

Zprv se na tom podílí celá síť neuronů. Může docházet ke ztrátám inhibičních neuronů, vytváření přebytečných excitačních synapsí nebo tvorbě lézí, které způsobují poruchy normálně funkčních spojů (Subramanian et al., 2020), (Wong, 2008).

Na vytváření přebytečných excitačních synapsí se podílejí například axon navádějící molekuly, které mohou odpuzovat axony neuronů, což vede k posunutí excitačně inhibiční

rovnováhy směrem k excitaci (Sarnat & Flores-Sarnat, 2021). Konkrétně se to týká keratan sulfátu, který odpuzuje glutamatergní synapse a naopak podporuje vytváření inhibičních GABAergních synapsí (Sarnat, 2019).

Dále se na epileptogenezi podílí samotné neurony, u kterých došlo ke změnám ve funkci. Takové buňky pak mohou začít produkovat velké množství excitačních neurotransmiterů a jejich receptorů nebo naopak zabraňují normální funkci inhibičních mechanismů (Wong, 2008).

Dalším faktorem jsou u některých MCD nezralé buňky, které si zachovávají některé vlastnosti uplatňující se u neuronů ve vyvíjejícím se mozku (viz. kapitola 2.4.1), což může vést ke snížení prahu pro vznik epileptického záchvatu (Ben-Ari, 2002), (Wong, 2008). V takovém případě může mít hlavní inhibiční neurotransmiter GABA depolarizační a tedy excitační vliv na nezralé buňky (Khazipov, 2016).

Zásadní je také role gliových buněk. Například astrocyty se podílí na vychytávání iontů a neurotransmiterů z extracelulárního prostředí, což může podnítit zvýšenou excitabilitu, pokud gliová buňka nekoná tyto funkce správně (Wong, 2008).

Nejčastější malformací způsobující epilepsii je fokální kortikální dysplázie (Tahta & Turgut, 2020). Další časté příčiny jsou polymicrogyrie, heterotopie a lehčí formy lissencephalie (Liu et al., 2015).

## **4. Rozdělení malformací na základě narušeného vývojového procesu**

Dělení malformací kortikálního vývoje na základě narušeného vývojového procesu je pravděpodobně nejčastější. Probíhající experimenty prokazují nové příčiny malformací, což je hlavním kritériem při jejich dělení a také důvod pro neustále se vyvíjející klasifikaci (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). Velká spousta malformací se vzhledem k obrovskému množství příčin nedá jednoznačně zařadit a často dochází k narušení více vývojových procesů. Nezanedbatelným problémem je i to, že se často neobjevuje samotná izolovaná malformace, ale dochází ke spojení s nějakou jinou. Navíc různé mutace v rámci jediného genu způsobují vysoce heterogenní patogenezi a tak i potíže při diagnostice a klasifikaci (Perucca et al., 2020).

Dále se také používá dělení malformací do skupin podle mutací v genech účastnících se stejných procesů. Mezi takové patří tubulinopatie, kdy jsou mutovány geny pro tubulin způsobující například lissencephalii, polymicrogyrii, microcephalii nebo microlissencephalii

(Chang, 2015). Dystroglykanopatie (nebo  $\alpha$ -dystroglykanopatie) jsou způsobeny mutacemi v enzymech glykosylujících  $\alpha$ -dystroglykan a patří mezi ně cobblestone malformace nebo dysgyrie (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). Reelinopatie se týká variantní lissencephalie a proteinu REELIN účastníci se migrace a jeho receptoru (Barkovich et al., 2015).

**Tabulka č. 1: Rozdělení malformací na základě narušeného vývojového procesu.** Autor: Jana Populová.

Vývojový proces	Malformace		Příčina
Proliferace	Primární microcephalie		Geny pro buněčné dělení a opravu DNA, mTOR kaskáda, tubulinopatie
	Megalencephalie		mTORopatie – hyperaktivace mTOR kaskády
	Hemimegalencephalie		
	FCDII		
	TSC		
Migrace	Lissencephalie		
		Klasická	TUBA1A, DCX, LIS1
		Variantní	ARX, RELN, VLDLR
	Cobblestone malformace		α-dystroglykanopatie, integrita piální bazální membrány
	Heterotopie		FLN1, LIS1, DCX, XLIS
Diferenciace	Sekundární microcephalie		*
	Fokální kortikální dysplázie I a III		Poškození kortexu
	Ageneze corpus callosum		Axon navádějící proteiny
Malformace postihující více vývojových procesů	Polymicrogyrie		*
	Dysgyrie		Tubulinopatie, dystroglykanopatie

\* malformace spojené s jinými vývojovými vadami kortexu nebo syndromy s velkým množstvím různých příčin, které mohou být často těžko identifikovatelné

## 5. Poruchy proliferace neuronů

Poruchy proliferace jsou nejčastěji spojeny s geny pro buněčné dělení a přežívání buněk a mTOR signální kaskádou. Zvýšená proliferace nebo snížená apoptóza může

způsobit megalencephalii, naopak snížená proliferace nebo zvýšení apoptóza může způsobit microcephalii. Abnormální proliferace pak může být příčinou vzniku dysmorfních neuronů u fokální kortikální dysplázie druhého typu (Severino et al., 2020).

## **5.1 Primární microcephalie**

Microcephalie je malformace projevující se zmenšenou hlavou. Zmenšený objem mozku se nazývá microencephalie. Termín microcephalie se ale vzhledem k tomu, že zmenšení hlavy je doprovázeno i zmenšením mozku často používá pro oba jevy. Microcephalie se dělí na primární vznikající prenatálně a sekundární vznikající až postnatálně (Severino et al., 2020).

Kortex může být normální a je pouze zmenšený mozek nebo dochází k vzniku i dalších malformací - například zmenšení počtu gyrů, což se projeví jako microlissencephalie. Microcephalie bývá u pacientů spojena i se sníženým intelektem a epilepsií navzdory správnému kortikálnímu uspořádání (Gilmore & Walsh, 2013).

### **5.1.1 Příčiny primární microcephalie**

Příčin primární microcephalie je mnoho. Obecně je spojena se snížením počtu progenitorových buněk v důsledku snížené proliferace, zvýšené apoptózy a změn v buněčném dělení (Subramanian et al., 2020). Nejtěžší případy vznikají mutacemi genů u radiálních gliových buněk důležitých pro buněčné dělení, opravu DNA, cytokinezi, centromery, kinetochor, transportní funkce, syntézu aminokyselin a proteinů a více než polovina z nich kóduje proteiny spojené s centrozomálními funkcemi (Jayaraman et al., 2018).

Centrozom je útvar složený z páru centriol. Centriolový pár se před buněčným dělením v S-fázi buněčného cyklu duplikuje a vzniknou dva centrozomy putující k opačným pólům buňky. Centrioly jsou obklopeny pericentriolovou matrix, ze které vyrůstají mikrotubuly dělicího vřeténka během mitózy (Lüllmann-Rauch, 2012). Mutovány jsou nejčastěji geny pro vznik a sestavení centriol, duplikaci centriol a centrozomu, připojení mikrotubulů ke kinetochoru na chromozomech (Jayaraman et al., 2018). Tyto mutace vedou k chybnému rozdělení chromozomů do dceřiných buněk, což vede k jejich apoptóze (Subramanian et al., 2020).

Lehčí případy pak souvisí s defekty v mTOR signalizační kaskádě (popsána v kapitole mTORopatie), které vedou ke snížení její aktivity především skrze loss-of-function mutace v genu pro AKT3. Mimo jiné existují i negenetické příčiny – například infekce virem Zika nebo vystavení plodu účinkům teratogenů a toxinů. (Juric-Sekhar & Hevner, 2019),

(Jayaraman et al., 2018). Dále jí mohou způsobit mutace v genech pro tubulin a můžeme tak microcephalii řadit mezi tubulinopatie (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

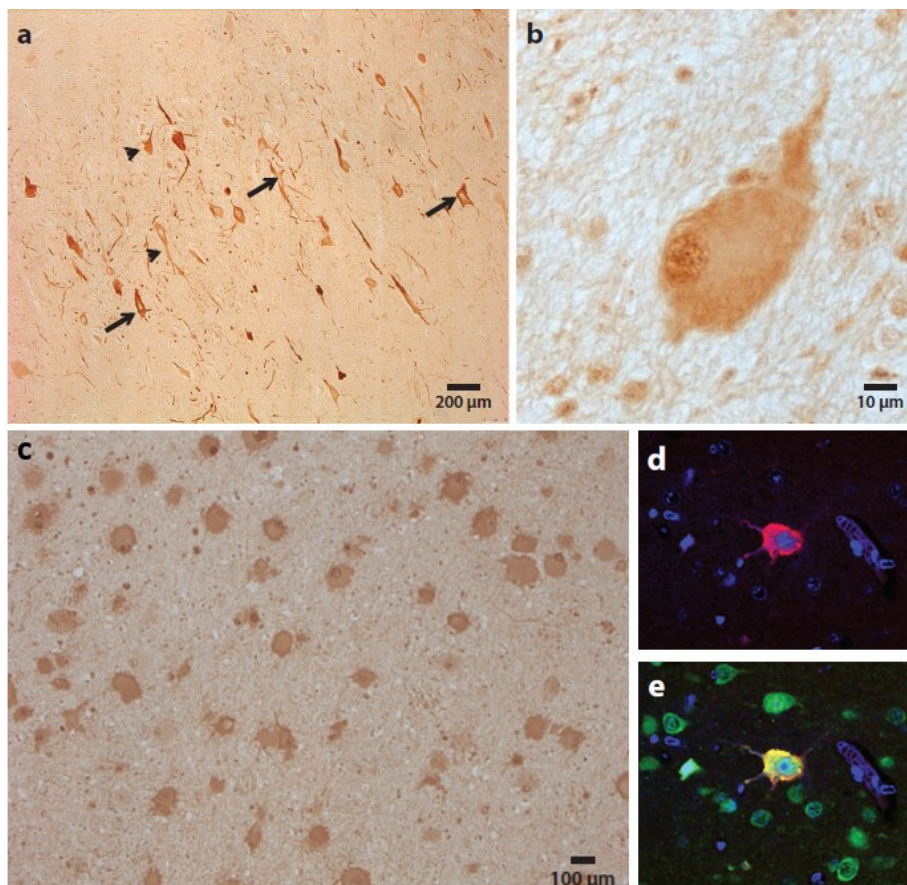
## **5.2 mTORopathie**

Do této skupiny se řadí malformace způsobené mutacemi v genech regulující aktivitu mTOR signální kaskády ovlivňující buněčný růst a proliferaci. Spadá sem fokální kortikální dysplázie II, komplex tuberózní sklerózy, megalencephalie a hemimegalencephalie. Dochází ke změnám v kortikálním uspořádání, které vedou k těžké epilepsii, snížení intelektu a poruchám autistického spektra (Subramanian et al., 2020).

### **5.2.1 Fokální kortikální dysplázie II (FCDII)**

Fokální kortikální dysplázie se dělí do tří typů (podle International League Against Epilepsy, 2012) na základě morfologie a exprese určitých proteinů. Všechny jsou charakterizovány porušenou organizací kortikálních vrstev (Iffland & Crino, 2017).

U FCDII se navíc vyskytují abnormální buňky – cytomegalické dysmorfní neurony (CDN) a balónové buňky (BC). CDN jsou zvětšené a špatně orientované vůči kortikálním vrstvám. Mají pozměněný tvar buňky i dendritické výběžky a jsou pravděpodobně zodpovědné za vznik záchvatů. BC jsou masivně zvětšené vejcovitého tvaru (Iffland & Crino, 2017). Na základě exprese určitých proteinových markerů typických pro radiální gliové progenitory z ventrikulární zóny je pravděpodobné, že CDN a BC se vyvinuly právě z těchto buněk (Lamparello et al., 2007). Pro FCDIIa jsou typické CDN, pro FCDIIb CDN i BC a navíc často ztráta myelinizace neuronů (Iffland & Crino, 2017).



**Obrázek č. 6: Abnormální neurony u FCDII.** (a) CDN značené protilátkami pro proteiny neurofilament. Měřítko: 200 µm. (b) CDN značené protilátkami pro Ser235/236 isoformu S6 proteinu. Měřítko: 10 µm. (c) BC značené protilátkami pro nestin. Měřítko: 100 µm. Převzato a upraveno podle Iffland & Crino, 2017. (d,e) Dvoubarevná imunofluorescence pro detekci fosforylovaného S6 proteinu (d) a NeuN (e) u dysplastického neuronu. Měřítko: 25 µm. Převzato a upraveno podle Juric-Sekhar & Hevner, 2019.

### 5.2.2 Komplex tuberózní sklerózy (TSC)

TSC je charakterizováno jako podtyp FCDIIb na základě mechanismu vzniku a podobné patologie (Severino et al., 2020). Tubery u TSC se někdy dají odlišit od normálních FCDII lézí na základě zvýšené kalcifikace tuber (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

### 5.2.3 Megalencephalie (ME)

Na rozdíl od microcephalie, macrocephalie není nutně provázaná s megalencephalií a pro zvětšení mozku se tedy využívá primárně termín megalencephalie. Zvětšení mozku může být bilaterální nebo unilaterální, kdy se jedná o hemimegalencephalii. (Severino et al., 2020).

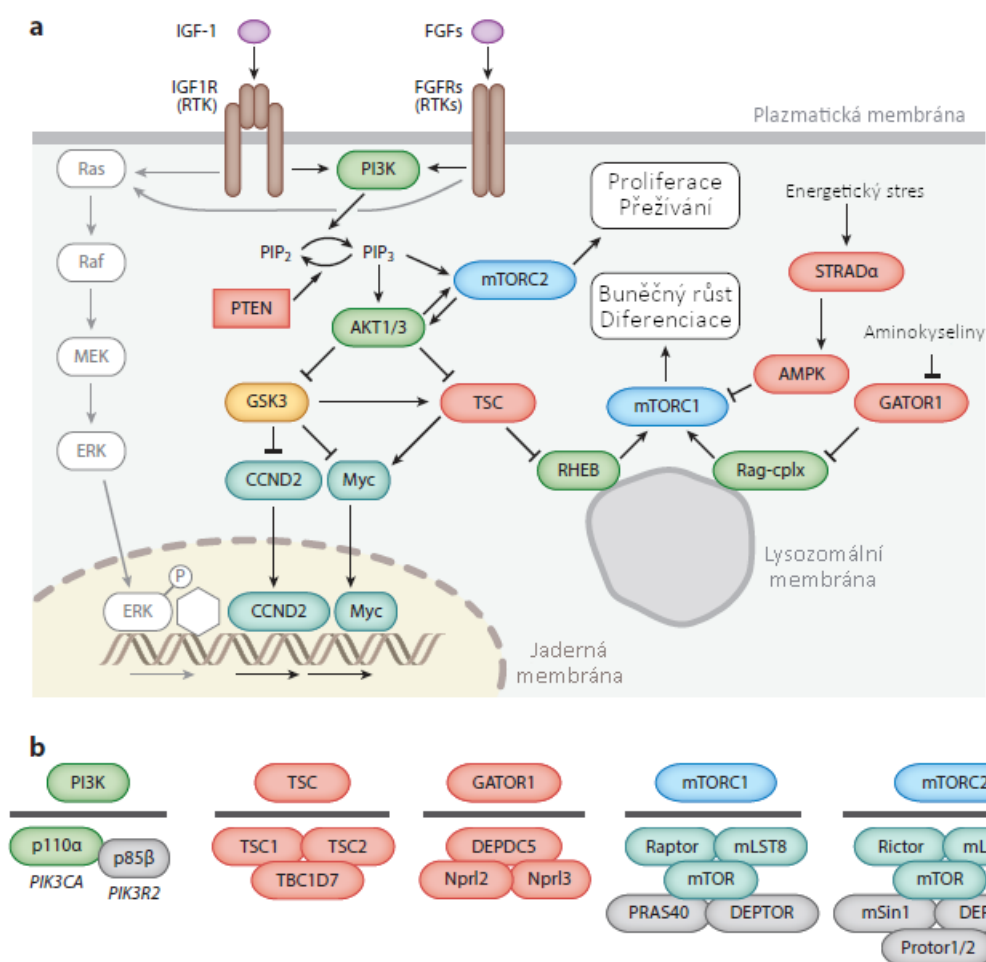
### 5.2.4 Hemimegalencephalie (HME)

Jedná se o jednostranné zvětšení mozku (zvětšení jedné hemisféry nebo laloku) (Severino et al., 2020). Může být doprovázeno chybným uspořádáním kortikálních vrstev (Dobyns, 2019).

### 5.2.5 mTOR signální kaskáda

FCDII, TSC, ME a HME jsou charakterizovány jako mTORopatie a dochází k hyperaktivaci signální kaskády, jejímž výsledkem je ovlivnění proliferace a růstu buněk a následné nadměrné narůstání hmoty kortexu během kortikálního vývoje a cytomegalie neuronů (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). mTOR je kináza, která je součástí dvou komplexů: mTORC1 a mTORC2. Komplex mTORC1 vzniká při vazbě mTOR kinázy na protein Raptor a reguluje syntézu proteinů a lipidů, buněčný růst, buněčnou proliferaci a autofagii. Komplex mTORC2 vzniká při vazbě na protein Rictor a reguluje buněčnou proliferaci a přežívání buněk (Marsan & Baulac, 2018).

mTORC1 aktivuje fosforylaci ribozomálního proteinu S6, který se dá vizualizovat a použít jako marker pro detekci hyperaktivace mTORC1 (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).



**Obrázek č. 7: mTOR signální kaskáda.** (a) Přehled signální dráhy a regulačních komplexů. (b) Stavba komplexů účastnících se regulace mTOR kaskády. Převzato a upraveno podle Juric-Sekhar & Hevner, 2019.

### **5.2.5.1 Hlavní regulační mechanismy spojené s mTORopatiemi**

Existuje několik regulačních mechanismů mTOR signální kaskády. mTORC1 je regulován komplexem TSC, GATOR1 a STRAD $\alpha$ . mTORC2 je regulován hlavně přes růstové faktory a signalizaci receptor tyrosinovou kinázou (Marsan & Baulac, 2018), (Saxton & Sabatini, 2017).

#### **Signalizace přes receptor tyrosinovou kinázu (RTK)**

Velké množství malformací je spojeno s hyperaktivací receptor tyrosinové kinázy (RTK), která následně aktivuje fosfatidylinositol-3-kinázu (PI3K). To vede k aktivaci protein kinázy B (AKT), která aktivuje mTOR signální kaskádu. RTK je aktivována pomocí IGF-1 a FGF (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

#### **TSC komplex**

TSC komplex se skládá z proteinů TSC1, TSC2 a TBC1D7 a je inhibítozem mTORC1 v nepřítomnosti růstových faktorů (Juric-Sekhar & Hevner, 2019), (Saxton & Sabatini, 2017).

#### **GATOR1 komplex**

GATOR1 komplex se skládá z proteinů DEPDC5, Nprl2 a Nprl3 a inhibuje mTORC1 při nedostatečném množství aminokyselin (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

#### **STRAD $\alpha$ komplex**

STRAD $\alpha$  komplex se skládá z proteinů STRAD $\alpha$ , LKB1 a MO25 a aktivuje AMP aktivovanou protein kinázu (AMPK), která inhibuje mTORC1 komplex. STRAD $\alpha$  reaguje na energetický stres buněk, při kterém se zvedá koncentrace cAMP (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

### **5.2.6 Mutace spojené s mTORopatiemi**

Závažnost malformace závisí i na období, ve kterém k mutacím dochází. Pokud se tak stane brzy ve vývoji, větší počet buněk nese mutaci a vznikne závažnější malformace. Naopak mutace v pozdějším stadiu vývoje způsobí lehčí malformace (Barkovich et al., 2012), (Marsan & Baulac, 2018).

Jednou z nejčastějších mutací je aktivující gain-of-function somatická mutace v mTOR genu způsobující převážně FCDII a megalencephalii. Gain-of-function mutace v genech pro AKT3 a PI3K jsou často zodpovědné za vznik HME a ME. Dále jsou důležité loss-of-function mutace v genech pro TSC1, TSC2 (TSC komplex), DEPDC5, Nprl2 a Nprl3 (GATOR1 komplex) zodpovědné hlavně za TSC a FCDII. U těchto mutací bývá zárodečně mutovaná jedna alela a musí pravděpodobně dojít k somatické mutaci v druhé nezmutované alele (Dobyns, 2019), (Marsan & Baulac, 2018), (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).



### 5.2.7 Epileptogeneze u fokálních dysplázií a HME

Léze/tubery u FCDII a TSC obsahují abnormální buňky (CDN, BC), které se účastní tvorby epileptických záchvatů. Hlavní příčinou jsou CDN, které se nacházejí ve větší hustotě v centru lézí (Stephenson et al., 2019).

CDN mají v porovnání s normálními neurony odlišné pasivní membránové vlastnosti vzhledem k jejich zvětšení (a zvětšení membránové plochy) a objevuje se u nich větší množství proudů způsobených fluktuacemi intracelulární koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$ , což může vést k hyperexcitabilitě (Cepeda et al., 2003).

BC na rozdíl od CDN nevykazují spontánní elektrickou aktivitu a přímo se tak na vzniku epileptických záchvatů nejspíš nepodílejí (Cepeda et al., 2003). Mohou se ale pravděpodobně podílet nepřímo skrze expresi glutamátového transportéru, což vede k uvolnění intracelulárního glutamátu (Devinsky et al., 2013 citovaný dle Stephenson et al., 2019).

U FCD dochází ke snížení exprese některých podjednotek  $\text{GABA}_A$  receptoru u dysmorfních buněk (Crino et al., 2001) a chybnému uspořádání a ztrátám  $\text{GABA}_A$  receptorů inhibičních interneuronů (Wong, 2008).

Zvýšená exprese podjednotek AMPA a NMDA receptorů způsobuje zvýšení stimulace u FCD neuronů (Tahta & Turgut, 2020). V obou případech se jedná o ionotropní glutamátové receptory propouštějící kationty.

S  $\text{GABA}_A$  receptorem souvisí i „pacemaker“  $\text{GABA}$  synaptická aktivita (PGA), což je vysoce synchronizovaný signál zprostředkovaný tímto receptorem, který ovlivňuje buněčnou excitabilitu a objevuje se u pacientů postižených FCDI, FCDII, TSC a HME. Tento signál je schopný skrze depolarizaci synchronizovat CDN a nezralé neurony. Tato depolarizace také může vyvolat nárůst intracelulární koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$ , což podporuje excitaci neuronu a vznik epileptického záchvatu (Cepeda et al., 2014), (Khazipov, 2016).

## 6. Poruchy migrace neuronů

Nefunkční migrace, kdy neurony se nedostanou až do kortikálního plátu může vést k lissencephalii, naopak u cobblestone malformací neurony migrují až za marginální zónu (Kanatani et al., 2004). Částečná migrace pak může vést k rozmístění neuronů v abnormálních oblastech, a tedy k heterotopii (Severino et al., 2020).

### 6.1 Lissencephalie

Lissencephalie se vyznačuje „hladkým“ mozkem a ztlustěním kortexu, který má pouze dvě až čtyři vrstvy. Kompletní agyrie úplně bez gyrifikace je velmi vzácná a spíše se objevuje

pachygyrie se zjednodušeným gyrálním vzorem (Severino et al., 2020). Mozek postižený touto malformací bývá menší než je průměr, u výrazného zmenšení hovoříme o microlissencephalii. Lissencephalie bývá spojena s mentální retardací a epileptickými záchvaty (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). V některých případech dochází k defektům v GABAergních interneuronech. Vzhledem k rozdílu v patogenezi a příčině vzniku se lissencephalie dále dělí na klasickou a variantní (Mochida, 2009).

### **6.1.1 Příčiny lissencephalie**

Příčinou klasické lissencephalie jsou mutace v genech kódujících tubulin (hlavně TUBA1A) nebo kódujících proteiny zajišťující napojení na mikrotubuly (MAPs – DCX, LIS1) (Barkovich et al., 2015). Mutace v genech LIS1 a TUBA1A vznikají de novo, mutace v DCX (je na X chromozomu) se častěji dědí (Mochida, 2009). LIS1 kóduje protein účastnící se buněčného dělení a migrace skrze napojení na molekulární motor dynein (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). DCX je gen pro doublecortin a zajišťuje napojení na mikrotubuly a reguluje jejich polymerizaci. Zatímco mutace u mužů způsobuje lissencephalii, u žen způsobuje „pouze“ band heterotopii, jelikož muži mají pouze jeden chromozom X (Romero et al., 2018). TUBA1A kóduje tubulin  $\alpha$ -1A (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

Příčinou variantní lissencephalie jsou mutace v genech ARX, RELN a VLDLR. ARX (aristaless-related homeobox) kóduje transkripční faktor důležitý pro vývoj a migraci GABAergních interneuronů (Mochida, 2009). RELN kóduje extracelulární protein REELIN účastnící se regulace migrace a způsobuje inhibici migrace. Protein REELIN je produkován Cajal-Retzius buňkami v molekulární vrstvě kortexu. VLDLR je receptorem proteinu REELIN. Mutace v RELN nebo VLDLR se někdy označují jako reelinopatie (Mochida, 2009), (Juric-Sekhar & Hevner, 2019).

## **6.2 Cobblestone malformace**

Cobblestone malformace vznikají migrací neuronů skrze piální bazální membránu až do subarachnoidálního prostoru. Neurony tak tvoří útvary na povrchu kortexu připomínající dlažební kámen (Mochida, 2009). To vede k nepravidelnému povrchu mozkové kůry a často dochází i ke zjednodušení gyrifikace a ztlustění kortexu (Severino et al., 2020).

### **6.2.1 Příčiny cobblestone malformací**

Příčinou jsou především mutace v enzymech, které glykosylují  $\alpha$ -dystroglykan a cobblestone malformace jsou tak někdy nazývány jako  $\alpha$ -dystroglykanopatie. Tyto mutace způsobí, že RG se nemůže přichytit na piální bazální membránu a neurony se tak od RG odpojí a putují poněkud neřízeně až do subarachnoidálního prostoru (Mochida, 2009), (Juric-

Sekhar & Hevner, 2019).  $\alpha$ -dystroglykan je součástí dystrofin-glykoproteinového komplexu, který se účastní propojení aktinových filament s transmembránovými proteiny (Lüllmann-Rauch, 2012).

Mimo jiné dochází i k mutacím v genech důležitých pro integritu piální bazální membrány, například geny pro lamininy (Juric-Sekhar & Hevner, 2019). Lamininy jsou produkovány buňkami vytvářejícími bazální membránu a jsou nejdůležitější adhezni glykoproteiny extracelulární matrix. Zprostředkovávají kontakt mezi buňkou a kolagenovou sítí bazální membrány (Lüllmann-Rauch, 2012).

### **6.3 Heterotopie**

Heterotopie se vyznačuje normálními neurony, které ale vzhledem k porušené migraci doputovali do abnormálních oblastí – buď se migrace zastavila dřív nebo naopak trvala moc dlouho - a dochází tak ke vzniku shluků šedé hmoty mimo kortex (Severino et al., 2020). Nejčastěji se dělí na subependymální (periventrikulární), subkortikální a subkortikální band heterotopii (double cortex). Téměř u všech pacientů se vyvine epilepsie (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

#### **6.3.1 Periventrikulární heterotopie**

Shluky šedé hmoty se tvoří kolem postranních mozkových komor (I. a II. mozková komora). Jedná se o nejčastější typ heterotopie (Romero et al., 2018).

#### **6.3.2 Subkortikální heterotopie**

Shluky šedé hmoty se tvoří v bílé hmotě hemisfér (Severino et al., 2020). Často současně dochází k agenezi nebo hypogenezi corpus callosum (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

#### **6.3.3 Subkortikální band heterotopie**

U band heterotopie dochází k tvorbě vrstvy (pruhu) neuronů v bílé hmotě nebo pod kortexem v důsledku zastavení migrace v intermediární zóně. Kortex může být normální nebo může docházet až k agyrii a často se tak řadí do poruch lissencephalického spektra (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

#### **6.3.4 Příčiny heterotopie**

U periventrikulární heterotopie se nejčastěji mutace objevují v genu pro filamin 1 (FLN1) na X chromozomu. Filamin je protein, který váže aktinový cytoskelet migrujícího neuronu a membránové proteiny na výběžcích radiálních glií a neuron s mutací v tomto proteinu nemůže migrovat z subependymální zóny. Vzhledem k tomu, že muži mají pouze jeden X chromozom, mají daleko horší projevy spojené s dalšími malformacemi, které se u žen s touto mutací neobjevují (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

U subkortikální heterotopie se předpokládá, že mutace jsou spíše somatické a ovlivňují migraci neuronů ze zárodečné vrstvy do kortexu (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

U subkortikální band heterotopie dochází podobně jako u lissencephalie k mutacím v genech LIS1 (17. chromozom) a DCX nebo XLIS (X chromozom). Mutace v tomto genu u žen způsobuje band heterotopii, kdežto u mužů kompletní lissencephalii (Barkovich & Kuzniecky, 2000).

## **6.4 Epileptogeneze u poruch migrace neuronů**

U lissencephalie je vznik epileptických záchvatů spojen s defekty v GABAergních interneuronech a narušením konektivity v důsledku abnormálního uspořádání kortikálních vrstev (Mochida, 2009). Syndromy spojené s mutací v ARX jsou nazývány interneuronopatie a způsobují redukci inhibice (Represa, 2019).

U periventrikulární heterotopie není jasné, jakou mírou se na vzniku záchvatů podílí heterotopické léze, ale důkazy zatím nasvědčují, že dochází ke vzniku obřích epileptogenetických sítí zahrnující jak léze, tak normální okolní neurony (Watrin et al., 2015).

Vzhledem k tomu, že subkortikální band heterotopie je lehčí formou lissencephalie a je způsobena mutacemi ve stejných genech, příčiny epileptogeneze mohou být podobné (Guerrini & Parrini, 2010).

Pokusy na myších s umlčeným DCX genem pomocí RNA interference (způsobuje subkortikální band heterotopii) ukázaly, jak tato malformace může přispívat epileptogenezi. Neurony, které nebyly schopné migrovat na určené místo, si zachovávaly vlastnosti nezralých neuronů a projevila se u nich opožděná maturace GABA zprostředkované signalizace. Zdravé neurony obklopující heterotopické léze naopak prokázaly větší množství glutamátergních synapsí přispívajících k excitabilitě. Heterotopické neurony jsou integrovány v normální kortikální síti a vykazují spolu synchronní aktivitu během epileptických záchvatů. Tato aktivita byla také vyšší než v normálním kortexu (Ackman et al., 2009).

## **7. Poruchy postmigrační diferenciaci neuronů**

Poruchy postmigrační diferenciaci jsou často spojeny s poruchami navádění axonů a postihují vytváření spojení mezi neurony (Subramanian et al., 2020).

### **7.1 Sekundární microcephalie**

Na rozdíl od primární microcephalie, sekundární vzniká až po narození (Barkovich et al., 2012). Při něm má mozek normální velikost, ale dochází k redukci synapsí a

dendritických výběžků a zpomalení vývoje. Sekundární microcephalie je často spojena s poruchami metabolismu a dalšími syndromy (Woods, 2004).

#### **7.1.1 Příčiny sekundární microcephalie**

Mezi nejznámější patří Rettův syndrom, kdy mozek vypadá a funguje normálně do doby, než se onemocnění projeví (6-18 měsíců) a poté dochází k redukci růstu mozku, což vede k mentální retardaci a epileptickým záchvatům. Rettův syndrom je způsobený mutací v MeCP2 genu vázaném na X chromozomu kódující protein účastnící se vývoje mozku (Woods, 2004).

Další geny spojené se sekundární microcephalií jsou FOXP1 způsobující variantní Rettův syndrom nebo X-vázaný CASK (Barkovich et al., 2012).

### **7.2 Fokální kortikální dysplázie I a III**

Kromě porušené organizace kortikálních vrstev se FCD prvního typu (FCDI) mimo jiné vyznačuje hypertrofickými pyramidálními neurony umístěnými mimo kortikální vrstvu V a malými nematurovanými neurony. FCDI většinou postihuje menší části kortexu. Dále se dělí na tři podtypy. FCDIa (abnormální uspořádání kortexu), FCDIb (ztráta šestivrstvé struktury kortexu) a FCDIc (kombinace předchozích dvou typů) (Iffland & Crino, 2017).

FCDIII se velmi podobá typu FCDI, ale navíc obsahuje léze v mozku. Podle typu léze se dále dělí do podtypů a-d (Iffland & Crino, 2017).

#### **7.2.1 Příčiny FCDI a III**

Příčinou je pravděpodobně nějaké poškození kortexu během pozdní fáze vývoje (Barkovich et al., 2012). Chybná organizace neuronů vede k hyperexcitabilitě (Subramanian et al., 2020).

#### **7.2.2 Epileptogeneze u FCD I a III**

Epileptogeneze u FCDI a III spočívá v nesprávné funkci nezralých neuronů a poškozené konektivitě v důsledku chybné organizace kortikálních vrstev (Stephenson et al., 2019). Dále se může podílet PGA skrze depolarizaci nezralých neuronů (Cepeda et al., 2014).

### **7.3 Ageneze corpus callosum**

Corpus callosum je útvar propojující levou a pravou mozkovou hemisféru, který vzniká růstem axonů z určitého místa v jedné hemisféře do stejného místa v hemisféře druhé (Čihák, 2004). Účastní se integrace motorické a senzorické informace, abstraktního uvažování a funkcí souvisejících s řečí. Při agenezi corpus callosum úplně chybí, při částečné agenezi chybí alespoň nějaká jeho část (Edwards et al., 2014).

Tvorba corpus callosum trvá přibližně od třináctého gestačního týdne do dvacátého. Neurony tvořící corpus callosum pocházejí z vrstev II, III, V a VI neokortexu (Edwards et al., 2014). Nejprve dochází působením netrinů k přitáhnutí axonu do střední části vyvíjejícího se mozku a poté začnou působit odpuzující slit proteiny a axon se tak nemůže vrátit zpět a pokračuje do protilehlé hemisféry (Van Battum et al., 2015).

### **7.3.1 Příčiny ageneze corpus callosum**

Vzhledem k faktu, že ageneze corpus callosum se jen výjimečně vyskytuje jako izolovaná malformace a naopak se dá identifikovat u řady jiných malformací spojených s proliferací, migrací, diferenciací, naváděním axonů i vytvářením středových struktur na jejichž rozhraní působí axon navádějící proteiny, se příčiny ageneze hledají těžko (Edwards et al., 2014).

Mutace v receptorech pro netriny (receptor DCC) nebo slit proteiny (receptor Robo) mohou způsobit poruchy v navádění axonů přes střední část do protilehlé hemisféry (Van Battum et al., 2015).

### **7.3.2 Epileptogeneze u ageneze corpus callosum**

Ačkoliv se epilepsie vyskytuje až u dvou třetin pacientů, sama malformace není zodpovědná za vznik epileptických záchvatů a je třeba hledat další příčinu. Corpus callosum se ovšem může podílet na přenosu záchvatů do opačné hemisféry a tím generalizaci těchto epileptických záchvatů. Proto se často přistupuje ke callosotomii, kdy se přeruší spojení mezi hemisférami (Unterberger et al., 2016).

## **8. Malformace postihující více vývojových procesů**

### **8.1 Polymicrogyrie**

Polymicrogyrie se projevuje velkým množstvím zmenšených gyrů, které mohou splývat dohromady (jejich molekulární vrstvy (Juric-Sekhar & Hevner, 2019)) a zároveň dochází k abnormálnímu uspořádání vrstev. To může postihnout jak celý mozek, tak i jenom jeho část nebo jednu stranu, ale často se objevuje kolem Sylviovy brázdy (perisylvialní polymicrogyrie) (Richard J. Leventer et al., 2010), (Severino et al., 2020). Jedná se o velice heterogenní onemocnění co se patogeneze týče. Často bývá spojena s dalšími anomáliemi/malformacemi, například s rozštěpy mozkové kůry. V takovém případě jde o schizencephalii, kdy štěp je ohraničen tkání postiženou polymicrogyrií (Barkovich et al., 2012). Schizencephalie samotná většinou nemá genetickou příčinu, jedná se spíše o poruchu získanou v důsledku špatné péče nebo poruch nesouvisejících s nervovým systémem (Barkovich et al., 2015). Polymicrogyrie může být spojena také s periventrikulární heterotopií

(Richard J. Leventer et al., 2010). Epilepsie spojená s polymicrogyrií se projeví u většiny pacientů (častěji u mužů) a nejčastěji do pátého roku života (Richard J. Leventer et al., 2010).

### **8.1.1 Příčiny polymicrogyrie**

Určit příčinu samotné polymicrogyrie je vzhledem k vysoce heterogenní patogenezi a tomu, že se velice často vyskytuje spolu s nějakou další malformací, těžké. Podle (Squier & Jansen, 2014) je možné, že polymicrogyria není osamocená malformace, nýbrž se jedná o výsledek jiných malformací kortikálního vývoje.

Příčiny mohou být environmentálního i genetického původu. Mutované geny se účastní všech stádií kortikálního vývoje. Mezi ně patří například geny pro centrozomální funkce, mTOR kaskádu, složky mikrotubulů, stavbu piální bazální membrány, přichycení migrujících neuronů a další (Romero et al., 2018), (Squier & Jansen, 2014).

### **8.1.2 Epileptogeneze u polymicrogyrie**

Splynutí molekulárních vrstev gyrů vede k vytváření glutamátergních excitačních synapsí mezi v normálním případě oddělenými gyry, což může vést ke vzniku epileptických záchvatů (Sarnat & Flores-Sarnat, 2021).

Další příčinou může být keratan sulfát normálně podporující vznik inhibičních synapsí. Jeho nedostatečné množství umožňuje vytváření excitačních synapsí, čímž se posouvá rovnováha směrem k excitaci (Sarnat & Flores-Sarnat, 2021).

## **8.2 Dysgyrie**

Dysgyrie je označení pro nespecifické malformace kortikálního vývoje, které se vyznačují chybným uspořádáním kortikálního povrchu, ale nelze je zařadit do žádné ze stávajících kategorií. Často jsou řazeny mezi tubulinopatie a dystroglykanopatie (Severino et al., 2020).

## 9. Závěr

Cílem práce bylo popsat malformace kortikálního vývoje z pohledu patogeneze, příčiny a epileptogeneze a normální průběh vývoje kortexu na základě aktuálních poznatků z vědeckých laboratoří.

Studium problematiky těchto malformací je velice důležité vzhledem k razantnímu dopadu na kvalitu života postižených pacientů. Aktuální výzkumy se zaměřují na pochopení principu vzniku těchto poruch, identifikaci epileptických ložisek a jakým způsobem mohou vyvolávat epilepsii. Tyto znalosti se dají využít pro optimalizaci léčby, která je vzhledem k tomu, že takto vzniklé epilepsie bývají rezistentní vůči medikaci, velice obtížná a skládá se často pouze z režimových opatření. Nové poznatky by také mohly značně vylepšit úspěch chirurgických zákroků při odnětí poškozené tkáně, pokud by se povedlo lépe objasnit, které části jsou skutečně zodpovědné za epileptické záchvaty, a tedy které je nutné odstranit.

Pravděpodobně nejlépe prozkoumány jsou mTORopatie, konkrétně fokální kortikální dysplázie II, která je zároveň nejčastější příčinou epilepsie u malformací kortikálního vývoje (Liu et al., 2015).

I když byl v tomto odvětví zaznamenán obrovský pokrok, stále je co objevovat. U některých malformací zatím nejsou známy všechny příčiny, stejně tak jakým způsobem vyvolávají epilepsii. Existuje velké množství teorií, které je třeba experimentálně ověřit. Chybějící informace se týkají především malformací, které nejsou tak časté.

Také o normálním vývoji kortexu stále nemáme kompletní informace. Zatímco proliferace a migrace jsou relativně dobře prozkoumány, některé poznatky o procesech postmigrační diferenciaci a vytváření funkční neuronové sítě nejsou prozatím úplné. Studium těchto malformací nám také může pomoci pochopit, jak normální kortikální vývoj probíhá.



## 10. Použitá literatura

\* sekundární citace

- Ackman, J. B., Aniksztejn, L., Crépel, V., Becq, H., Pellegrino, C., Cardoso, C., Ben-Ari, Y., & Represa, A. (2009). Abnormal network activity in a targeted genetic model of human double cortex. *Journal of Neuroscience*, 29(2), 313–327.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4093-08.2009>
- Barber, M., & Pierani, A. (2016). Tangential migration of glutamatergic neurons and cortical patterning during development: Lessons from Cajal-Retzius cells. *Developmental Neurobiology*, 76(8), 847–881. <https://doi.org/10.1002/dneu.22363>
- Barkovich, A. J., Dobyns, W. B., & Guerrini, R. (2015). *Malformations of Cortical Development and Epilepsy*. 23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11744-0>
- Barkovich, A. J., Guerrini, R., Kuzniecky, R. I., Jackson, G. D., & Dobyns, W. B. (2012). A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: Update 2012. *Brain*, 135(5), 1348–1369. <https://doi.org/10.1093/brain/aws019>
- Barkovich, A. J., & Kuzniecky, R. I. (2000). Gray matter heterotopia. *Neurology*, 55(11), 1603–1608. <https://doi.org/10.1212/wnl.55.11.1603>
- Ben-Ari, Y. (2002). Excitatory actions of GABA during development: The nature of the nurture. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(9), 728–739. <https://doi.org/10.1038/nrn920>
- Budday, S., Steinmann, P., & Kuhl, E. (2015). Physical biology of human brain development. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(JULY), 1–17.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00257>
- Cepeda, C., Chen, J. Y., Wu, J. Y., Fisher, R. S., Vinters, H. V., Mathern, G. W., & Levine, M. S. (2014). Pacemaker GABA synaptic activity may contribute to network synchronization in pediatric cortical dysplasia. *Neurobiology of Disease*, 62, 208–217.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.10.001>
- Cepeda, C., Hurst, R. S., Flores-Hernández, J., Hernández-Echeagaray, E., Klapstein, G. J., Boylan, M. K., Calvert, C. R., Jocoy, E. L., Nguyen, O. K., André, V. M., Vinters, H. V., Ariano, M. A., Levine, M. S., & Mathern, G. W. (2003). Morphological and electrophysiological characterization of abnormal cell types in pediatric cortical dysplasia. *Journal of Neuroscience Research*, 72(4), 472–486.  
<https://doi.org/10.1002/jnr.10604>
- Chang, B. S. (2015). Tubulinopathies and their brain malformation syndromes: Every TUB on its own bottom. *Epilepsy Currents*, 15(2), 65–67. <https://doi.org/10.5698/1535-7597-15.2.65>
- Chu, J., & Anderson, S. A. (2015). Development of cortical interneurons. *Neuropsychopharmacology*, 40(1), 16–23. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.171>
- Čihák, R. (2004). *Anatomie 3*. Grada Publishing a.s.
- Crino, P. B., Duhaime, A.-C., & Baltuch, G. (2001). Differential expression of glutamate and GABA-A receptor subunit mRNA in cortical dysplasia. *Neurology*, 57(12), 2325–2326.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.57.12.2325>

- \*Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N. C., & Rogawski, M. A. (2013). Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. *Trends in Neurosciences*, 36(3), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008>
- Dobyns, W. B. (2019). *Megalencephaly syndromes associated with mutations of core components of the PI3K-AKT – MTOR pathway : PIK3CA*, . July, 1–9. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31736>
- Edwards, T. J., Sherr, E. H., Barkovich, A. J., & Richards, L. J. (2014). Clinical, genetic and imaging findings identify new causes for corpus callosum development syndromes. *Brain*, 137(6), 1579–1613. <https://doi.org/10.1093/brain/awt358>
- Gilmore, E. C., & Walsh, C. A. (2013). Genetic causes of microcephaly and lessons for neuronal development. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 2(4), 461–478. <https://doi.org/10.1002/wdev.89>
- Guerrini, R., & Parrini, E. (2010). Neuronal migration disorders. *Neurobiology of Disease*, 38(2), 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.02.008>
- Iffland, P. H., & Crino, P. B. (2017). Focal Cortical Dysplasia: Gene Mutations, Cell Signaling, and Therapeutic Implications. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 12, 547–571. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-052016-100138>
- Jayaraman, D., Bae, B. Il, & Walsh, C. A. (2018). The genetics of primary microcephaly. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 19(May), 177–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083117-021441>
- Juric-Sekhar, G., & Hevner, R. F. (2019). Malformations of Cerebral Cortex Development: Molecules and Mechanisms. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 14, 293–318. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012927>
- Kanatani, S., Tabata, H., & Nakajima, K. (2004). Topical Review: Neuronal Migration in Cortical Development. *Journal of Child Neurology*, 19(3), 274–279. <https://doi.org/10.1177/08830738040190030201>
- Khazipov, R. (2016). GABAergic synchronization in epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(2), 1–14. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022764>
- Kirischuk, S., Sinning, A., Blanquie, O., Yang, J. W., Luhmann, H. J., & Kilb, W. (2017). Modulation of neocortical development by early neuronal activity: Physiology and pathophysiology. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11(November), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00379>
- Lamparello, P., Baybis, M., Pollard, J., Hol, E. M., Eisenstat, D. D., Aronica, E., & Crino, P. B. (2007). *Developmental lineage of cell types in cortical dysplasia with balloon cells*. <https://doi.org/10.1093/brain/awm175>
- Lang, F., & Silbernagl, S. (2001). *Atlas patofyziologie člověka*. Grada Publishing a.s.
- Leventer, R. J., Phelan, E. M., Coleman, L. T., Kean, M. J., Jackson, G. D., & Harvey, A. S. (1999). Clinical and imaging features of cortical malformations in childhood. *Neurology*, 53(4), 715–722. <https://doi.org/10.1212/wnl.53.4.715>
- Leventer, Richard J., Jansen, A., Pilz, D. T., Stoodley, N., Marini, C., Dubeau, F., Malone, J.,

- Mitchell, L. A., Mandelstam, S., Scheffer, I. E., Berkovic, S. F., Andermann, F., Andermann, E., Guerrini, R., & Dobyns, W. B. (2010). Clinical and imaging heterogeneity of polymicrogyria: A study of 328 patients. *Brain*, *133*(5), 1415–1427. <https://doi.org/10.1093/brain/awq078>
- Liu, W., An, D., Xiao, J., Li, J., Hao, N., & Zhou, D. (2015). Malformations of cortical development and epilepsy: A cohort of 150 patients in western China. *Seizure*, *32*, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.09.009>
- Lüllmann-Rauch, R. (2012). *Histologie* (Překlad 3.). Grada Publishing a.s.
- Marsan, E., & Baulac, S. (2018). *mTOR pathway, focal cortical dysplasia and epilepsy*. <https://doi.org/10.1111/nan.12463>
- Mochida, G. H. (2009). Genetics and Biology of Microcephaly and Lissencephaly. *Seminars in Pediatric Neurology*, *16*(3), 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2009.07.001>
- Perucca, P., Bahlo, M., & Berkovic, S. F. (2020). The Genetics of Epilepsy. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, *21*, 205–230. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-120219-074937>
- Rakic, P. (2009). Evolution of the neocortex: A perspective from developmental biology. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(10), 724–735. <https://doi.org/10.1038/nrn2719>
- Rash, B. G., Duque, A., Morozov, Y. M., Arellano, J. I., Micali, N., & Rakic, P. (2019). Gliogenesis in the outer subventricular zone promotes enlargement and gyrification of the primate cerebrum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(14), 7089–7094. <https://doi.org/10.1073/pnas.1822169116>
- Raybaud, C., & Widjaja, E. (2011). Development and Dysgenesis of the Cerebral Cortex: Malformations of Cortical Development. *Neuroimaging Clinics of North America*, *21*(3), 483–543. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2011.05.014>
- Represa, A. (2019). Why Malformations of Cortical Development Cause Epilepsy. *Frontiers in Neuroscience*, *13*(March), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00250>
- Romero, D. M., Bahi-Buisson, N., & Francis, F. (2018). Genetics and mechanisms leading to human cortical malformations. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *76*(August 2019), 33–75. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.09.031>
- Sarnat, H. B. (2019). Proteoglycan (keratan sulfate) barrier in developing human forebrain isolates cortical epileptic networks from deep heterotopia, insulates axonal fascicles, and explains why axosomatic synapses are inhibitory. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *78*(12), 1147–1159. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlz096>
- Sarnat, H. B., & Flores-Sarnat, L. (2021). Excitatory/Inhibitory Synaptic Ratios in Polymicrogyria and Down Syndrome Help Explain Epileptogenesis in Malformations. *Pediatric Neurology*, *116*, 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2020.11.001>
- Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*, *168*(6), 960–976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
- Severino, M., Geraldo, A. F., Utz, N., Tortora, D., Pogledic, I., Klonowski, W., Triulzi, F., Arrigoni, F., Mankad, K., Leventer, R. J., Mancini, G. M. S., Barkovich, J. A., Lequin, G. M. S., & Andermann, E. (2021). The mTOR pathway in cortical malformations: A review. *Brain*, *144*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa300>

- M. H., & Rossi, A. (2020). Definitions and classification of malformations of cortical development: Practical guidelines. *Brain*, 143(10), 2874–2894. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa174>
- Spitzer, N. C. (2006). Electrical activity in early neuronal development. *Nature*, 444(7120), 707–712. <https://doi.org/10.1038/nature05300>
- Squier, W., & Jansen, A. (2014). Polymicrogyria: Pathology, fetal origins and mechanisms. *Acta Neuropathologica Communications*, 2(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40478-014-0080-3>
- Stephenson, S. E., Owens, H. G., Richards, K. L., Barton, S., Mandelstam, S. A., & Maixner, W. J. (2019). *Dysmorphic neuron density is highest in the centre of epileptogenic cortical tubers*.
- \*Stevens, B., Porta, S., Haak, L. L., Gallo, V., & Fields, R. D. (2002). Adenosine: A neuron-glial transmitter promoting myelination in the CNS in response to action potentials. *Neuron*, 36(5), 855–868. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01067-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01067-X)
- Subramanian, L., Calcagnotto, M. E., & Paredes, M. F. (2020). Cortical Malformations: Lessons in Human Brain Development. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13(January), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00576>
- Tahta, A., & Turgut, M. (2020). Focal cortical dysplasia: etiology, epileptogenesis, classification, clinical presentation, imaging, and management. *Child's Nervous System*, 36(12), 2939–2947. <https://doi.org/10.1007/s00381-020-04851-9>
- Unterberger, I., Bauer, R., Walser, G., & Bauer, G. (2016). Corpus callosum and epilepsies. *Seizure*, 37, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.02.012>
- Van Battum, E. Y., Brignani, S., & Pasterkamp, R. J. (2015). Axon guidance proteins in neurological disorders. *The Lancet Neurology*, 14(5), 532–546. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70257-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70257-1)
- Van Essen, D. C. (1997). A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. In *Nature* (Vol. 385, Issue 6614, pp. 313–318). <https://doi.org/10.1038/385313a0>
- Wagner-Golbs, A., & Luhmann, H. J. (2012). Activity-dependent survival of developing neocortical neurons depends on PI3K signalling. *Journal of Neurochemistry*, 120(4), 495–501. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07591.x>
- \*Wake, H., Ortiz, F. C., Woo, D. H., Lee, P. R., Angulo, M. C., & Fields, R. D. (2015). Nonsynaptic junctions on myelinating glia promote preferential myelination of electrically active axons. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms8844>
- Watrin, F., Manent, J. B., Cardoso, C., & Represa, A. (2015). Causes and consequences of gray matter heterotopia. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 21(2), 112–122. <https://doi.org/10.1111/cns.12322>
- White, T., Su, S., Schmidt, M., Kao, C. Y., & Sapiro, G. (2010). The development of gyrification in childhood and adolescence. *Brain and Cognition*, 72(1), 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2009.10.009>

- Wong, M. (2008). Mechanisms of epileptogenesis in tuberous sclerosis complex and related malformations of cortical development with abnormal glioneuronal proliferation. *Epilepsia*, 49(1), 8–21. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01270.x>
- Woods, C. G. (2004). Human microcephaly. *Current Opinion in Neurobiology*, 14(1), 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.01.003>